Dr F.BOUBRIT

HEMOCULTURE

Définitions- Rappels physiopathologiques

1- Bactériémie:

La bactériémie est la présence éphémère de bactéries dans la circulation sanguine, les décharges bactériennes se font soit via le syst lymphatique, soit directement dans le sang de façon passagère ou durable, s'accompagnant ou pas de symptômes cliniques.

Le tableau clinique consiste svt en un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) associant 2 des signes suivants: fièvre, hypotension, tachycardie, tachypnée, leucopénie ou hyperleucocytose.

Actuellement, on définit 3 types de bactériémies:

- Transitoire: décharges brèves de bactéries dans le sang, sans manifestations cliniques et spontanément résolutives;
- Continue: décharges continuelles qui se rencontrent notamment lors d'endocardites ou en cas de brucellose ou de fièvres typhoïde;
- Intermittente: décharges bactériennes répétées à la suite d'infections diverses.

2- Septicémie:

Appelée aussi sepsis, désigne une infection grave de l'organisme caractérisée par la présence de germes pathogènes dans le sang, les voies lymphatiques et les organes.

Il existe différents types de septicémies:

- Septicémie d'origine thromboembolique: porte d'entrée muqueuse ou tégumentaire;
- Septicémie d'origine lymphatique: porte d'entrée svt digestive;
- Septicémie par effraction: (milieu extra hospitalier: interventions dentaires sanglantes; milieu hospitalier: chirurgie digestive, endoscopie,...)
- Septicémie néo-natale

Etiologies microbiennes

Groupes	Rôle	Agents microbiens
Gpe I: Agents pathogènes spécifiques	Indiscutable: 1 flc (+) suffit pour poser de diagnostic	-*Salmonella typhi* -*Salmonella paratyphi A, B, C* -*Brucella spp* -*Haemophilus influenzae* -*Neisseria menigitidis* -*Campylobacter jejuni* -*Streptococcus pneumoniae* -*Streptococcus βH gpe A, B* -*Clostridium perfringens* -*Bacteroides fragilis*
Gpe II: Agents pathogènes opportunistes	Discuté en fonction: - nbre de flcs (+) - porte (s) d'entrée - terrain	-Entérobactéries: *E.coli*, KES, *Proteus*, Salmonelles mineures -*Pseudomonas aeruginosa* -*Staphylococcus aureus* / SCN -Streptocoque gpe D et NG -Levures: *Candida albicans*
Gpe III: Agents commensaux ou saprophytes	Très discuté: - flores normales et environnement - contaminants fréquents	-*Acinetobacter baumanii* -*Stenotrophomonas maltophilia* -*Corynebacterium spp* -*Bacillus spp* -*Propionibacterium acnes*

Hémoculture

1- Définition

L'hémoculture consiste à mettre en culture du sang circulant qui est normalement stérile, afin de pouvoir rapidement détecter et identifier l'agent infectieux responsable d'une bactériémie. L'échantillon de sang doit être prélevé aseptiquement et en quantité suffisante, le délai de culture est souvent long.

2. Contexte et objectifs

Toute fièvre d'origine indéterminée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection, doit faire pratiquer des hémocultures.

Selon le contexte clinique, les objectifs sont les suivants:

- Diagnostic étiologique de la bactériémie

- Recherche du foyer originel (porte d'entrée)
- Choix de l'antibiothérapie
- Suivi et surveillance de l'efficacité du traitement antibiotique.

3. Prélèvement

En milieu hospitalier, les hémocultures représentent les prélèvements les plus fréquemment prescrits.

Mode de prélèvement: doit être réalisé après antisepsie rigoureuse, pour éviter toute contamination par des germes cutanés ou ambiants.

Technique:

Préleveur: - lavage des mains

- port de gants

Patient: - asepsie de la peau au point de ponction de façon centrifuge (nettoyage à l'alcool éthylique à 70°, ATS avec produit iodé telle la polyvidone iodée) ou (2 fois alcool à 70°)

Il faut désinfecter l'opercule du flacon avec alcool 70° ou polyvidone iodée.

Le système de prélèvement est une tubulure munie de 2 aiguilles, l'une servant à pratiquer la ponction veineuse et l'autre à inoculer le flacon grâce à un adaptateur.

Site du prélèvement:

- Site habituel: ponction veineuse au niveau de la veine du pli du coude
- Veine jugulaire, KT ombilical ou talon (dispositif de microhémoculture): N né, prématuré
- KT intra artériel ou intra veineux: prvt à proscrire

Moment du prélèvement: Quand prélever?

Objectif du choix du moment: éviter tout faux négatif

- ❑ Prélever le plus tôt possible au cours de la maladie
- ❑ En dehors de toute antibiothérapie ou sous fenêtre thérapeutique de 48 - 72H.
- ❑ Bactériémie continue: peu importe le moment
- ❑ Bactériémie discontinue: pic thermique, hypothermie, frissons ou sueurs

Nombre de flacons :

1 hémoculture = 2 flacons (anaérobie/aérobie)

Bactériémie continue: 3 à 4 hémoc sur 48H, espacées de 30 à 60 min

- ❖ **Si antibiothérapie dans les 10 j: faire 6 hémoc supplémentaires pdt 3j (2/j).**

Bactériémie intermittente: 4 à 6 hémoc en 48H (pics), prvts espacés.

Volume de sang:

- Chez l'adulte: 10 ml minimum (20 ml), car densité bactérienne faible
- Chez l'enfant: 5 ml; Chez le nouveau né, nourrisson: 1 à 2 ml, car densité bactérienne plus élevée

4. Milieux d'hémoculture

On ensemence 2 flacons pour chaque prélèvement, un flc aérobie et un flc anaérobie.
en Algérie on utilise le **bouillon citraté (aérobie)** (IPA), il se présente sous forme de flc de 250ml avec 180ml de bouillon citraté à 0,5%

5. Systèmes d'hémoculture

Systèmes manuels:

- **Flacons citratés :** IPA / flc microhémoculture

Système automatisés:

Des automates assurent en continu et simultanément la surveillance, l'agitation et l'incubation de tous les flcs d'hémocultures introduits. Ils permettent de détecter plus facilement et plus rapidement la croissance bactérienne. Les lectures se font toutes les 10 min et la positivité d'un flc est signalée par une alarme visuelle et ou sonore.
Une incubation de 5 j, à 35°C sous agitation douce, est suffisante.
Ex : automate Bact/Alert

6. Traitement des flacons au laboratoire

- Acheminement au laboratoire: le plus rapidement possible afin d'être introduit dans l'étuve (syst manuel) ou dans l'automate. Chaque hémoculture doit être étiquetée correctement (N° d'enregistrement, Nom/prénom, service, date et heure du prvt, T°) et accompagnée d'une fiche de renseignements comportant :

  - Nom / prénom / âge
  - Service d'origine
  - Date / heure / mode de prvt
  - Renseignements cliniques / diagnostics évoqués
  - Traitements ATB éventuellement en cours

- Examens biologiques
- Autres hémoc pratiquées et résultats

- Surveillance – Repiquage – Lecture:

Surveillance:

Les flcs sont incubés à 35°C pdt 15 j (voire 30 J), la surveillance visuelle se fait tous les jours, à partir de la 6ème heure, en recherchant un signe de positivité: trouble, voile, hémolyse, coagulum, mie de pain, colonies sur la gélose, production de gaz.

NB: attention aux germes qui troublent peu ou pas le bouillon d'hémoc: *Brucella, Haemophilus, Neisseria,...*

Pour les syst automatisés, une incubation de 5 j suffit (parfois 10 à 15j).

Repiquage: 2 types

Repiquage suite à l'apparition de signes de positivité:

effectué à la moindre suspicion de culture (+), un échantillon du bouillon d'hémoc est ensemencé sur GSF (+ strie de staph), GSC, Columbia au sang et selon les résultats de l'ED, d'autres milieux peuvent être additionnés.

Repiquage systématique: en l'absence de signe de culture

À la 48H - au 5ème et 15ème j (ou 30ème jour).

Lecture des boites:

Si absence de culture, réincuber les boites jusqu'à 48H ou plus.

Si culture positive, on identifie les colonies pour chaque flacon d'hémoc (+sieurs flcs d'un même patient):

- Aspect des colonies
- Examen microscopique : EF - Gram
- Tests d'orientation
- Identification biochimique et antigénique
- Tests de sensibilité aux ATB: antibiogramme-CMI
- Antibiogramme d'urgence:

Flc monophasique (liquide): signe de positivité, ED (+):

ATB d'urgence à partir du bouillon.

Flc diphasique: ouvrir et racler les colonies à partir de la gélose Gram, identification et ATB

7. Interprétation:

Hémoculture	Bactérie en cause	Interprétation
+sieurs flcs (+) à 1seul germe, même ATB	Quelque soit la bactérie	Vraie bactériémie
+sieurs flcs (+) à +sieurs germes	Svt Entérocoques associés	- Faute d'asepsie - Foyer polymicrobien: digest, hémopathie, ID, brulures étendues
Tous les flcs sont (–)	N'élimine pas le diagnostic de bactériémie: - Volume de sg insuffisant - Nbre de flcs insuffisants - Prvt non réalisé au bon moment - Bactéries particulières - Antibiothérapie aveugle - Contrôle d'efficacité d'un trt ATB - Dc étiologique d'un état fébrile: Synd inflammatoire, allergie, néoplasie	
1 flc (+) sur l'ensemble des hémoc pratiquées	Bactérie à pouvoir pathogène indiscutable	Vraie bactériémie
	Bactérie à pouvoir pathogène discutable: B peu fréquente, germe de souillure	• Au moins 2 flcs (+) • Même bactérie isolée au niveau du foyer infectieux • Contexte clinique en faveur Exp: *E.coli* / IU
	Bactérie fréquemment responsable de contamination	• Au moins 2 flcs (+) • Même bactérie isolée d'un autre foyer infectieux ou autre porte d'entrée • Terrain Exp: *S. epidermidis* chez porteur de valve ou KT
	Isolement de: *Bacillus* *Micrococcus* BMPC *Corynebacterium* *Propionibacterium*	Contamination vraisemblable **NB:** si terrain fragilisé, faire une nouvelle série d'hémoc